

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1929-1930.

N° 3.

DOSAGE BIOLOGIQUE DE LA DIGITALE

PAR LA MÉTHODE DE HATCHER-MAGNUS APPLIQUÉE AU CHIEN

THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie).

Présentée et soutenue le

1929

PAR

JEAN PICHOT

PHARMACIEN, INTERNE DES HOPITAUX DE PARIS.

JURY { MM. GORIS, Président;
COUTIÈRE, Professeur;
MASCRÉ, Agrégé.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA COUR D'APPEL

1, RUE CASSETTE, 1

1929

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1929-1930.

N° 3.

DOSAGE BIOLOGIQUE DE LA DIGITALE

PAR LA MÉTHODE DE HATCHER-MAGNUS APPLIQUÉE AU CHIEN

THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie).

Présentée et soutenue le 1929

PAR

JEAN PICHOT

PHARMACIEN, INTERNE DES HOPITAUX DE PARIS.

JURY { MM. GORIS, Président;
COUTIÈRE, Professeur;
MASCRÉ, Agrégé.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA COUR D'APPEL

1, RUE CASSETTE, 1

1929

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, *Doyen*, O. ✱, ☉ I.
PERROT, *Assesseur*, O. ✱, ☉ I.
G. DURSENT, *Secrétaire*, ✱, ☉ I.

PROFESSEURS :

MM. RADAIS, O. ✱, ☉ I.	Cryptogamie et Microbiologie.
BÉHAL, G. O. ✱, ☉ I.	Chimie organique.
Membre de l'Institut.	
PERROT, O. ✱, ☉ I.	Histoire naturelle des Médicaments.
COUTIÈRE, O. ✱, ☉ I.	Zoologie.
GRIMBERT, ✱, ☉ I.	Chimie biologique.
LEBEAU, O. ✱, ☉ I.	Pharmacie chimique.
DELÉPINE, O. ✱, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, ✱, ☉ I.	Toxicologie.
BOUGAULT, ✱, ☉ I.	Chimie analytique.
GORIS, ✱, ☉ I.	Pharmacie galénique.
GUÉRIN, ✱, ☉ I.	Botanique générale.
TASSILLY, ✱, ☉ I.	Physique.
DAMIENS, ✱, ☉ I.	Chimie minérale.

Professeur honoraire : M. A. VILLIERS, ✱, ☉ I.

CHARGÉS DE COURS :

MM. SOMMELET, ✱, ☉ I. Minéralogie.
Marc HONNORAT, ✱, ☉ I. Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, ✱, ☉ I. Cryptogamie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

MM. SOMMELET, ✱, ☉ I.
LUTZ, ✱, ☉ I.
LAUNOY, ✱, ☉ A.
HÉRISSEY, O. ✱, ☉ I.
DELABY, ✱, ☉ A.

MM. PICON, ☉ I.
FABRE, ☉ A.
MASCRÉ, ☉ I.
FLEURY, ☉ I.
BACH, ☉ I.



CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES :

MM. DEFACQZ, ✱, ☉ I. Chimie générale.
FABRE, ☉ A. et FLEURY, ☉ I., *agregés*,
chargés des travaux de Chimie analytique.
SOUÈGES, ☉ I. Micrographie.
LEROUX, ☉ I. Physique.
DEVAL, ☉ I. Microbiologie.
HÉRISSEY, O. ✱, ☉ I.; DELABY, ✱, ☉ A. et PICON, ☉ I. :
agregés, chargés des travaux généraux de 4^e année.

Bibliothécaire en chef : M. BEAULIEUX, ☉ I.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. GORIS

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS
DIRECTEUR DE LA PHARMACIE CENTRALE DES HOPITAUX

*Hommage dévoué de ma respectueuse
gratitude.*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543729_0041

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR TIFFENEAU

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

PHARMACIEN EN CHEF DE L'HOTEL-DIEU

*En témoignage de reconnaissance et de
respectueux attachement pour son accueil
et ses conseils si bienveillants.*

A MADEMOISELLE JEANNE LÉVY

DOCTEUR ÈS SCIENCES

CHEF DU LABORATOIRE DE PHARMACOLOGIE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

*Après de qui j'ai toujours trouvé l'exemple
et les conseils qui m'ont encouragé et aidé à
mener à bien ce travail.*

A MA MÈRE

A MON PÈRE

Témoignage de ma très grande affection.

DOSAGE BIOLOGIQUE DE LA DIGITALE

PAR LA MÉTHODE DE HATCHER-MAGNUS

APPLIQUÉE AU CHIEN

INTRODUCTION

Depuis quelques années, les méthodes d'essais biologiques sont devenues d'un usage courant pour le contrôle des médicaments. Bien qu'elles soient moins rigoureuses que les méthodes chimiques, elles offrent sur celles-ci une telle supériorité qu'elles ont été depuis longtemps utilisées dans la pratique. Au surplus, elles ont été rendues officielles dès 1910 dans la Pharmacopée des États-Unis et, à la suite des travaux du Comité d'Hygiène de la Société des Nations (Conférences de 1923, de 1925 et de 1928), dont la Conférence de Bruxelles a adopté les conclusions, plusieurs pharmacopées ont introduit ces méthodes dans leurs formulaires. Précisément, pour ce qui concerne la digitale, c'est seulement avec les méthodes de dosage biologique, dont nous énumérons ci-dessous les techniques les plus caractéristiques, qu'il est possible de rendre compte des toxicités relatives des diverses feuilles de digitale ainsi que de leurs préparations galéniques.

Les dosages biologiques de la digitale sont, le plus souvent, basés sur une simple détermination de la *dose minima mortelle* cardiaque pour les divers animaux de laboratoire, c'est-à-dire de la plus petite dose susceptible de provoquer, en un temps arbitrairement choisi, la mort du cœur, soit chez un hétérotherme comme la grenouille (DOOLEY et HIGLEY ⁽¹⁾, SMITH et Mc CLOSKEY ⁽²⁾, TREVAN ⁽³⁾, GOTTLIEB ⁽⁴⁾, soit chez un

1. DOOLEY (M. S.) et HIGLEY (C. D.). *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1922, **2**, p. 944.

2. SMITH et Mc CLOSKEY. *The public health reports*. Washington, 1925, n° 52.

3. TREVAN. *Biochem. J.*, 1925, **19**, p. 4.

4. GOTTLIEB. *Munch. Med. Woch.*, 1914, **61**, p. 818; *Archiv. exp. Path. und Pharm.*, 1918, **82**, p. 360.

homéotherme comme le cobaye [KNAFFL-LENZ ⁽¹⁾] ou le chat [HATCHER ⁽²⁾, MAGNUS, LIND VAN WIJNGAARDEN ⁽³⁾]. Certains autres auteurs, et en particulier TREVAN, recourent à une méthode identique mais, sans provoquer la mort de tous les animaux, déduisent la *dose minima mortelle* du pourcentage des survies qui se produisent dans les différents lots d'animaux auxquels des doses croissantes ont été injectées.

Enfin, certains auteurs n'opèrent pas sur l'animal vivant, mais sur le cœur isolé ou même sur des fragments de muscle cardiaque. TREVAN, BOOCK, BURN et GADDUM ⁽⁴⁾ utilisent l'oreillette isolée du lapin, MANSFELD et HORN ⁽⁵⁾ font leurs déterminations à l'aide du sinus de cœur de grenouille, tandis que ROTHLIN et OLIARO ⁽⁶⁾ font agir successivement les solutions à doser sur plusieurs cœurs isolés de grenouilles. D'ailleurs, quelles que soient les techniques utilisées pour diminuer les erreurs qui sont dues tout à la fois à la variabilité du matériel expérimental et aux différences de sensibilité individuelle des divers animaux, les toxicités des diverses préparations sont toujours exprimées non en valeur absolue, mais comparativement à un étalon, notamment à l'étalon international adopté par la Société des Nations.

Cet étalon, dont la préparation a été confiée par la conférence de Genève de 1925 au professeur MAGNUS, est une poudre dont la teneur en eau est de 8 %. Cet étalon international a été préparé de telle sorte que 1 gr. de poudre, éprouvé par la méthode de perfusion lente de HATCHER-MAGNUS, contienne 11,1 doses mortelles pour le chat.

Ce produit est conservé dans des ampoules de verre brun foncé ; son contrôle est effectué chaque année (LIND VAN WIJNGAARDEN) et sa distribution est assurée par les soins du D^r DALE du « National Institut for Medical Resarch » de Londres. La conférence de Francfort (1928) a décidé la préparation d'un nouveau Standard de digitale dont la teneur en eau ne devra pas dépasser 3 %. Elle en a confié la préparation au professeur BILLSMA, successeur du regretté professeur MAGNUS.

L'unité internationale est représentée pour la digitale par l'activité contenue dans 0 gr. 1 de poudre étalon international.

La détermination de la toxicité relative d'une poudre de digitale par rapport à l'étalon international peut être effectuée, comme nous l'avons indiqué ci-dessus, suivant n'importe quelle technique, à condition que la même méthode soit rigoureusement suivie dans les essais comparatifs.

1. KNAFFL-LENZ. *Journ. Pharm. exp. Ther.*, 1926, **29**, p. 407.

2. HATCHER. *Journ. Am. Med. Assoc.*, 1907, **48**, p. 1171 ; HATCHER et BRODY. *Journ. Amer. Pharm.*, 1910, **82**, p. 360.

3. LIND VAN WIJNGAARDEN. *Arch. exp. Path. und Pharm.*, 1926, **112**, p. 252 ; 1926, **113**, p. 4059 ; 1926, **114**, p. 28.

4. TREVAN, BOOCK, BURN et GADDUM. *Quart. J. Pharm.*, 1926, p. 6.

5. MANSFELD et HORN. *Arch. exp. Path. und Pharm.*, 1928, **132**, p. 237.

6. ROTHLIN et OLIARO. *Comp. Rend. Ac. Sc.*, 1928, **186**, p. 901.

Parmi les diverses techniques ci-dessus énumérées, nous retiendrons surtout la méthode de perfusion lente décrite par HATCHER, puis modifiée par MAGNUS et LIND VAN WIJNGAARDEN, méthode qui consiste à injecter lentement dans la veine fémorale du chat, jusqu'à obtention de la mort de l'animal, un infusé de poudre de digitale préparé dans des conditions définies. L'expérience ainsi réalisée indique la quantité d'infusé produisant l'arrêt du cœur en un temps arbitrairement choisi. Il s'ensuit qu'après avoir effectué diverses séries d'expériences, les unes avec la poudre à examiner, les autres avec l'étalon international, on peut exprimer la valeur de l'une en fonction de l'autre.

Étant donné la difficulté de se procurer un nombre suffisant de chats pour effectuer une série de dosages de quelques poudres de digitale, nous avons tenté sous la direction de M. TIFFENEAU ⁽¹⁾ d'appliquer au chien la méthode de dosage d'HATCHER-MAGNUS. Le principe de celle-ci est à la fois simple et précis et permet d'injecter une quantité suffisamment importante de solution pour que la majeure partie des constituants de la digitale puisse être solubilisée sans difficulté.

Les résultats obtenus ont été nettement favorables. Dans une première série d'expériences, nous avons pu montrer qu'il est possible d'utiliser le chien avec autant de succès que le chat pour le titrage de la digitale, à condition de ne pas s'écarter de certaines règles. Celles-ci ont pu être précisées et fixées, elles seront détaillées dans le premier chapitre de ce travail.

Dans une deuxième série d'expériences, exposées dans le chapitre II, nous avons cherché quels sont les différents procédés qui permettent de solubiliser le maximum des principes actifs de la digitale. Nous avons également fixé les conditions qui nous ont permis d'effectuer le dosage de poudre de digitale après avoir préalablement perfusé dans la veine fémorale une partie de la dose minima mortelle d'un glucoside bien défini, par exemple l'ouabaïne cristallisée.

Enfin, dans un dernier chapitre, nous avons évalué, à partir des données statistiques, l'erreur maxima commise en appliquant au chien la technique de perfusion lente de HATCHER-MAGNUS.

1. M. TIFFENEAU, JEANNE LÉVY et J. PICHOT, *Paris Médical*, 1928, **48**, p. 562.

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUE DE LA MÉTHODE DE HATCHER-MAGNUS APPLIQUÉE AU CHIEN

La technique que nous avons utilisée est en tous points analogue à celle que HATCHER a décrite en utilisant le chat comme animal d'expérience et qui fut modifiée ultérieurement par MAGNUS. Nous donnerons donc rapidement la description de cette méthode, en insistant seulement sur les points qui la différencient de celle de HATCHER-MAGNUS.

Nos essais ont été effectués sur le chien anesthésié au chloralose et soumis à la respiration artificielle afin d'éviter de provoquer la mort par arrêt respiratoire. Le liquide dont on veut déterminer la toxicité est introduit par perfusion continue dans la veine fémorale.

Le débit de la solution est maintenu constant pendant la durée de l'expérience et il est réglé de telle sorte que la mort de l'animal survienne entre vingt-cinq et trente-cinq minutes.

Dans les lignes suivantes nous indiquerons, d'une part, les conditions qui doivent être observées pour la préparation de l'animal (anesthésie, respiration artificielle, etc.), d'autre part, nous insisterons sur les raisons qui nous ont fait choisir pour la durée de l'expérience un laps de temps aussi constant que possible, ce qui nous a obligé à modifier le rythme d'écoulement de la solution à doser dans chaque série d'essais. Enfin, nous énumérerons les différents procédés utilisés pour solubiliser le maximum des principes actifs de la digitale et nous exposerons le mode d'introduction de ces principes dans l'organisme.

I. CHOIX DE L'ANIMAL. — Bien que nous nous soyons toujours efforcé d'utiliser des animaux dont le poids varie entre 6 et 10 K^{os}, nous avons noté que des animaux de poids légèrement supérieur ou inférieur ont pu être employés sans qu'on observe de trop grandes irrégularités dans les expériences. Le sexe de l'animal ne semble pas influencer non plus la détermination de la dose minima toxique.

Par contre, l'état préalable de l'animal a une grande importance; on

ne doit utiliser pour ces essais ni animaux malades, ni femelles gravides, ni animaux exagérément gras. Nous avons aussi noté, avec une constance certaine, l'irrégularité des expériences faites sur les chiens endormis depuis quelques heures (trois à quatre heures) et qui probablement avaient subi un certain refroidissement.

II. PRÉPARATION DE L'ANIMAL. — Les animaux utilisés sont anesthésiés à l'aide du chloralose. Afin d'éviter l'action toxique bulbaire des tonicardiaques et de déterminer avec certitude la mort du cœur, nous avons soumis ces animaux à la respiration artificielle. Les produits sur lesquels on détermine la dose minima mortelle sont injectés dans la veine fémorale qui est mise à nu.

a) *Anesthésie* — L'anesthésie a toujours été pratiquée par injection intraveineuse effectuée au moyen d'une canule placée dans la saphène externe, préalablement dénudée. On utilise une solution tiède au 1/100 de chloralose préparée à raison de 12 centigr. de chloralose par kilogramme de l'animal et rendue isotonique par dissolution de chlorure de sodium.

Le plus généralement, après une courte période d'excitation, le chien s'endort profondément; on peut alors dénuder et cathétériser la veine fémorale par laquelle on effectuera l'injection du produit.

b) *Respiration artificielle*. — Après incision de la paroi, on isole la trachée et on fixe dans celle-ci une canule reliée à un soufflet électrique. On doit noter que le volume et le rythme, suivant lequel l'air pénètre dans les poumons de l'animal, doivent être fixés soigneusement, un volume trop élevé pouvant provoquer de l'emphysème aigu, un volume trop faible amenant soit une asphyxie progressive, soit une moindre résistance de l'animal. Pour fixer le volume et le rythme d'air qui doivent être utilisés, il faut se baser sur l'amplitude et le rythme de la respiration normale chez le chien. Le plus généralement nous nous sommes efforcé de produire 17 respirations par minute.

III. TECHNIQUE DE LA PERFUSION. — Le produit dont on veut déterminer la toxicité est solubilisé par différents procédés dans une solution de chlorure de sodium isotonique. Nous insisterons dans le chapitre suivant sur les méthodes auxquelles on a recours pour faire passer la majorité des constituants actifs de la digitale en solution dans un volume relativement restreint. La solution à essayer est introduite dans une burette de Mohr de 50 cm³ préalablement lavée à l'eau distillée, puis avec quelques centimètres cubes de la solution à essayer. La burette est reliée par un tube de caoutchouc à un embout de seringue s'adaptant à la canule fixée dans la fémorale. Une pince placée sur le trajet du tube de caoutchouc permet de régler très exactement le débit de l'écoulement de la solution.

De grandes précautions doivent être prises pour qu'aucune bulle d'air ne subsiste dans le tube de caoutchouc, ce qui pourrait, d'une part déter-

miner une embolie gazeuse, d'autre part fausser l'évaluation du volume de liquide utilisé. On chasse l'air par pression ascendante du caoutchouc, on amène le niveau du liquide jusqu'au zéro de la burette, puis l'on met celle-ci en relation avec la veine fémorale et on commence l'introduction du liquide dans l'organisme par perfusion lente comme dans la méthode de HATCHER-MAGNUS.

Nous n'avons pas cherché à maintenir la solution à température constante comme l'avait fait LIND VAN WIJNGAARDEN ; le liquide a toujours été perfusé à une température voisine de celle du laboratoire, c'est-à-dire de 15 à 25°, sans que nous ayons jamais constaté, de ce fait, d'irrégularités dans nos essais.

IV. RYTHME SUIVANT LEQUEL EST EFFECTUÉE LA PERFUSION. — Dans toutes les expériences que nous avons effectuées, nous nous sommes placés dans des conditions telles que l'arrêt du cœur se produise dans un temps déterminé, le plus voisin possible de trente minutes. La réalisation de ces conditions implique bien entendu quelques essais préliminaires pour fixer la toxicité approximative du produit examiné. Nous avons consacré quelques expériences rapportées dans le chapitre II pour démontrer, à l'aide de l'ouabaïne cristallisée, la nécessité d'opérer dans des limites de temps bien déterminées. La dose minima mortelle d'un tel glucoside reste sensiblement constante, même lorsque les concentrations utilisées ne sont pas identiques, à condition d'injecter la même dose d'ouabaïne par kilogramme d'animal et par minute, ce qui amène la mort de l'animal dans un même laps de temps.

Les essais préliminaires sont donc effectués avec un rythme arbitrairement choisi, mais qui est maintenu rigoureusement constant pendant toute la durée de la perfusion. Si la durée de la perfusion a dépassé trente-cinq minutes, on augmente la quantité de liquide perfusé par minute ; si elle est inférieure à vingt-cinq minutes, on la diminue.

On arrive ainsi à obtenir un rythme qui répond approximativement aux conditions arbitrairement imposées. On fait alors une série de déterminations de la dose minima mortelle dans des conditions bien définies.

D'autre part, ayant choisi le rythme avec lequel le liquide doit être perfusé, il faut le maintenir constant pendant toute la durée de l'expérience. Pour remplir cette condition, nous avons employé un procédé empirique qui demande, il est vrai, une attention soutenue de la part de l'expérimentateur, mais qui a l'avantage d'être simple et de donner de bons résultats. Il consiste à vérifier à chaque minute le débit de l'expérience et à modifier l'écoulement dès qu'il semble varier. Cette méthode qui ne nécessite aucun dispositif expérimental nous a donné toute satisfaction.

V. CONSTATATION DE L'ARRÊT DU CŒUR. — Pour constater l'arrêt du cœur marquant le terme de l'expérience, plusieurs procédés peuvent être employés ; le procédé le plus simple est certainement celui qui con-

siste à pratiquer la palpation de l'organe; cependant à la fin de l'expérience il est parfois difficile de se rendre comptes'il y a simplement diminution de l'amplitude et de la tonicité cardiaque, ou arrêt cardiaque réel.

On peut alors, lorsque les battements du cœur deviennent difficilement perceptibles, soit ouvrir rapidement le thorax, soit fixer un drapeau dans le cœur à travers la paroi thoracique. Ce dernier procédé que nous avons le plus généralement employé ne semble pas léser le cœur; cependant nous devons signaler que, dans un cas, nous avons observé de la fibrillation ventriculaire précoce qui, il est vrai, pouvait être due à la digitale.

L'inscription de la pression artérielle au moyen du manomètre de LUDWIG, qui présente l'avantage de fournir à la fois une représentation plus précise des phénomènes d'intoxication et une détermination plus facile de la mort, peut être recommandée sans qu'elle soit cependant indispensable.

VI. DÉTERMINATION DE LA DOSE MINIMA MORTELLE D'UNE POUDRE DE DIGITALE. — Après avoir déterminé, comme nous l'avons dit ci-dessus, le rythme approximatif suivant lequel il faut injecter une solution contenant des glucosides cardiaques pour obtenir la mort du chien dans un temps se rapprochant le plus possible de trente minutes, on effectue toute une série d'expériences dans les mêmes conditions.

Soit « m » le poids de la substance contenue dans la solution utilisée, « p » le poids du chien, « n » le nombre d'expériences effectuées, la dose minima mortelle est fournie par la formule

$$\left(\frac{m}{p} + \frac{m}{p} + \frac{m^n}{p^n}\right) \times \frac{1}{n}$$

On évalue de la même manière la dose minima mortelle de l'étalon international. On peut alors calculer la valeur d'une poudre de digitale en fonction de celle de l'étalon international.

Il resterait à savoir quelle est l'erreur maxima que l'on a pu commettre. En ce qui concerne la discussion des erreurs commises dans ces dosages, nous renvoyons le lecteur au chapitre VII dans lequel nous discuterons cette question.

CHAPITRE II

PREPARATION DES SOLUTIONS RENFERMANT LES PRINCIPES ACTIFS DE LA DIGITALE INFUSÉS ET TEINTURES

La méthode de perfusion lente, sur les animaux de laboratoire autres que les grenouilles, offre l'avantage de permettre l'injection d'une notable quantité de liquide et par conséquent de pouvoir réaliser la solubilisation de la totalité des principes actifs contenus dans la poudre de digitale. Au contraire les méthodes utilisant la grenouille obligent à injecter dans le sac lymphatique une quantité limitée de liquide, ce qui implique nécessairement une dissolution moins parfaite des principes actifs.

Nous avons cherché quelles étaient les meilleures méthodes permettant de solubiliser le maximum des constituants actifs de la digitale et nous envisagerons tour à tour l'infusé et la teinture.

A) INFUSÉ

D'après les travaux publiés (*) sur ce sujet, il apparaît que l'infusé contient à la concentration de 1,5 à 0,5 % toutes les substances actives de la poudre. Le tableau ci-dessous montre en effet qu'avec les infusés

CONCENTRATION de l'infusé	10 %	5 %	1,5 %	0,5 %
Pourcentage des principes actifs, dissous dans l'infusé d'après :				
FOCKE.	74		84	
JOACHIMOGLU	50	80		
SCHMIEDEBERG	56		95	
LIND VAN WIJNGAARDEN				99
WEIS et HATCHER			100	

1. D'après Die Digitalisblätter der neuer Arzneibücher, namentlich der niederländischen pharmakopöe de J. S. MEULENHOF, *Bull. de la Féd. Inter. pharmaceutique*, 8^e année, 1927, n° 3, p. 191.

à 5 et à 10 % il reste, d'après les différents auteurs, de 20 à 50 % des principes actifs, tandis qu'avec les infusés de concentration variant de 1,5 à 0,5 % on dissout sensiblement la totalité des constituants actifs.

D'autre part, la question de savoir combien de temps peut être conservé un infusé contenant tous les principes actifs de la digitale a fait l'objet de nombreuses expériences qui semblent avoir fourni des résultats bien différents. D'après MEULENHOFF un infusé à 0,5 perd 10 % de son pouvoir toxique en trois jours; par contre HATCHER estime que durant trois semaines un infusé à 0,5 % conserve sensiblement la même puissance; JOACHIMOGLU observe dans le même temps une diminution de 44 % du même infusé. Nous n'avons pas étudié cette question qui intéresse surtout le thérapeute; nous avons toujours opéré avec des infusés récents.

Nous avons effectué nos essais soit, au début, avec un infusé à 2,5 %, soit ultérieurement avec un infusé à 1 % et les résultats obtenus ont été à peu près concordants.

Préparation de l'infusé à 2,5 %. — Nous avons préparé cet infusé suivant les prescriptions de la pharmacopée hollandaise. A 6 gr. 25 de poudre de digitale, introduits dans un ballon de 500 cm³, on ajoute peu à peu, en agitant de façon à imbiber uniformément la poudre, 250 cm³ d'eau distillée; le ballon est alors plongé dans un récipient contenant un litre d'eau froide qui est chauffé progressivement jusqu'à ce que le contenu du ballon atteigne la température de 90°. A ce moment le ballon est retiré du bain-marie. Après cinq minutes on rend la solution isotonique par addition de 2 gr. 25 de chlorure de sodium. On attend encore dix minutes, puis on filtre l'infusé sur un filtre à plis et on le reçoit dans un flacon sec. On le laisse alors refroidir et atteindre la température ambiante et on peut l'utiliser extemporanément.

Préparation de l'infusé à 1 %. — Cet infusé à été préparé de la même manière que le précédent. On pèse 5 gr. de poudre et on prépare 500 cm³ d'infusé dans un ballon de 1 litre.

B) TEINTURE.

La teinture que nous avons préparée, non au 1/10 comme la teinture officinale, mais au 1/5, contient toutes les substances actives et paraît très stable d'après l'avis des différents auteurs. En particulier, MEULENHOFF signale qu'après dix-huit mois il n'a observé aucune diminution de son activité.

Nous avons préparé les teintures utilisées dans nos essais par deux méthodes différentes, soit par lixiviation avec de l'alcool à 70°, soit par macération d'une poudre de digitale dans de l'alcool à 70° pendant vingt-quatre heures.

Teintures obtenues par lixiviation de la poudre de digitale. — Nous

avons préparé une teinture au $1/5$ par une double lixiviation. Nous avons effectué primitivement une première macération de vingt heures dans le percolateur, puis lixivié pendant cinq heures. Enfin nous avons opéré une seconde macération de vingt heures et lixivié à nouveau jusqu'à l'obtention d'un poids de teinture déterminé.

Pratiquement nous avons imbibé 400 gr. de poudre de digitale avec 50 gr. d'alcool à 70°. Après deux heures de contact nous avons tamisé ce mélange et l'avons introduit dans un percolateur et tassé modérément. Nous avons alors versé une quantité d'alcool à 70° suffisante pour que l'alcool s'écoule par le robinet inférieur et pour que la poudre en soit recouverte par environ 1 cm. Nous avons fermé le robinet inférieur et nous avons laissé la macération s'effectuer vingt heures en vase clos. Nous avons lixivié lentement en maintenant le niveau de l'alcool à 1 cm au-dessus de la poudre, et nous avons recueilli le liquide lixivié dans un ballon taré. Après cinq heures nous avons opéré une nouvelle macération de vingt heures, puis lixivié à nouveau, jusqu'à obtention de 500 gr. de teinture au $1/5$. Cette teinture a été elle-même transformée d'abord en teinture au $1/10$ puis en solution hydro-alcoolique au 1/100.

Les petites quantités d'étalon international dont nous disposions ne nous ont pas permis d'appliquer scrupuleusement à celui-ci la méthode décrite ci-dessus. Nous avons employé 35 gr. de poudre étalon qui a été introduite dans un percolateur trop grand dans lequel la lixiviation s'est effectuée trop rapidement. Aussi, comme nous le développons dans le chapitre IV de ce travail, il nous apparaît que les résultats obtenus avec la teinture étalon ainsi préparée ne peuvent pas être considérés comme exacts.

Teinture obtenue par macération de la poudre de digitale. — Nous avons toujours préparé des teintures au $1/5$ en effectuant une macération pendant vingt-quatre heures, puis ces teintures ont été étendues d'eau, soit avant, soit après avoir été filtrées.

a) *Solution hydro-alcoolique obtenue par dilution extemporanée d'une teinture au $1/5$ obtenue par macération d'une durée de vingt-quatre heures.* — On fait macérer 4 gr. de poudre dans 20 gr. d'alcool à 70°. Après vingt-quatre heures, on ajoute 380 cm³ d'eau distillée et on filtre. On obtient ainsi une solution hydro-alcoolique de digitale à 1 ‰.

b) *Solution hydro-alcoolique au $1/100$ obtenue à partir d'une teinture au $1/5$ préparée par macération d'une durée de vingt-quatre heures.* — On fait macérer 6 gr. de poudre dans 30 gr. d'alcool à 70° pendant vingt-quatre heures. On filtre alors la solution alcoolique et on ajoute à 15 gr. du filtrat la quantité d'eau distillée nécessaire pour obtenir une solution à 1 ‰, rendue isotonique par addition de chlorure de sodium.

CHAPITRE III.

CONSTANCE DE LA DOSE MINIMA MORTELLE DE L'OUABAIN CRISTALLISÉE DÉTERMINÉE A DES CONCENTRATIONS DIVERSES

Avant d'indiquer les résultats obtenus avec l'infusé de digitale, nous exposerons quelques essais préalables effectués avec de l'ouabaine à des concentrations différentes.

Comme nous l'avons fait remarquer ultérieurement, on observe une toxicité sensiblement constante en injectant la même dose d'ouabaine par kilogramme d'animal et par minute, à partir de solutions plus ou moins concentrées. Ces expériences ont montré que le chien, quelles que soient sa race et son origine, possède une sensibilité cardiaque

TABLEAU I.

POIDS du chien en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaine contenant 0 milligr. 025 par centimètre cube perfusé	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaine perfusés par minute	DURÉE de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaine par kilogramme d'animal	QUANTITÉ d'ouabaine perfusée par kilogramme en milligrammes	QUANTITÉ d'ouabaine par kilogramme et par minute en milligrammes
7	45	1,87	24	6,42	0,16	0,0068
7	60	2	30	8,55	0,21	0,0071
7,1	68,5	1,89	35	9,79	0,24	0,0070
7,5	49,5	1,8	27	6,8	0,17	0,0061
8,5	59	1,9	34	6,9	0,17	0,0055

Dose minima mortelle moyenne (en milligrammes), par kilogramme d'animal, 0,19.

suffisamment uniforme pour pouvoir être utilisé dans les dosages des tonicardiaques. On peut donc tenir compte des résultats obtenus avec différentes solutions, même lorsque leur concentration n'est pas iden-

tique, pourvu que la mort de l'animal survienne dans le même laps de temps arbitrairement choisi, comme nous l'avons indiqué ci-dessus, de vingt-cinq à trente minutes.

DOSSES MINIMA MORTELLES DE L'OUABAÏNE CRISTALLISÉE : SA CONSTANCE AUX DIVERSES CONCENTRATIONS. — Les essais ont été effectués avec de l'ouabaïne cristallisée ARNAUD (NATIVELE) dont nous n'avons pas, à cette époque, déterminé préalablement la teneur en H²O. La dose minima mortelle, obtenue dans cette série d'expériences, n'a donc qu'une valeur relative et nous ne devons retenir de ces expériences que la constance de la dose minima mortelle aux diverses concentrations.

Dans une première série d'expériences, nous avons opéré en injectant aux animaux une solution aqueuse d'ouabaïne telle que 1 cm³ contienne 0 milligr. 025 d'ouabaïne cristallisée par centimètre cube (tableau I).

La dose minima mortelle de l'ouabaïne déduite de cette expérience est de 0 milligr. 19 par kilogramme d'animal. La quantité d'ouabaïne injectée dans chaque expérience par kilogramme et par minute est sensiblement constante puisqu'elle varie de 0,0055 à 0,0071 par kilogramme et par minute.

La deuxième série d'expériences (tableau II) a été effectuée avec une solution aqueuse telle que 1 cm³ de solution contienne 0 milligr. 166 d'ouabaïne cristallisée par centimètre cube.

TABLEAU II.

POIDS du chien en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaïne contenant 0 milligr. 166 par centimètre cube perfusés	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaïne perfusés par minute	DURÉE de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaïne par kilogramme d'animal	QUANTITÉ d'ouabaïne perfusée par kilogramme en milligrammes	QUANTITÉ d'ouabaïne par kilogramme et par minute en milligrammes
5,5	60	2,00	30	10,9	0,18	0,0060
5,5	45,3	1,96	23	8,2	0,134	0,0058
5,2	69	2,03	34	13,2	0,22	0,0064
5	58	2,07	28	11,6	0,19	0,0068
5,5	66	1,94	34	12	0,20	0,00585
Dose mortelle moyenne (en milligrammes) par kilogramme d'animal, 0,18.						

La dose minima mortelle d'ouabaïne, déduite de cette série d'expériences, est de 0 milligr. 18 par kilogramme d'animal. La quantité d'ouabaïne injectée dans chacune des expériences par kilogramme et par minute est sensiblement constante puisqu'elle a varié de 0 milligr. 38 à 0 milligr. 68.

Dans une troisième série d'expériences nous avons injecté à l'animal

une solution aqueuse contenant 0 milligr. 0125 d'ouabaine cristallisée par centimètre cube (voir tableau III).

TABLEAU III.

POIDS du chien en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaine contenant 0 milligr. 0125 par centimètre cube perfusés	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaine perfusés par minute	DURÉE de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes par kilogramme d'animal	QUANTITÉ d'ouabaine perfusée par kilogramme en milligrammes	QUANTITÉ d'ouabaine par kilogramme d'animal et par minute en milligrammes
7 ♀ . . .	102	4	25,5	14,5	0,18	0,0069
7,4 ♂ . . .	101,4	3,9	26	13,6	0,17	0,0065
8,2 ♂ . . .	120	4,1	29	14,6	0,183	0,0063
7 ♂ . . .	106,4	3,9	27	15,2	0,19	0,0067
Dose minima mortelle moyenne (en milligrammes) par kilogramme d'animal, 0,181.						

La dose minima mortelle d'ouabaine cristallisée, dans les conditions décrites ci-dessus, est de 0 milligr. 181. Dans ces expériences la quantité d'ouabaine injectée par kilogramme et par minute est sensiblement constante et varie de 0 milligr. 63 à 0 milligr. 69.

Ces trois séries d'expériences peuvent être résumées dans le tableau suivant (IV) :

TABLEAU IV.

CONCENTRATION de l'ouabaine utilisée par centimètre cube (en milligrammes)	NOMBRE d'expériences	MOYENNE des doses toxiques en milligrammes par kilogramme d'animal	DURÉE de la perfusion en minutes
0,0125	4	0,181	25 à 29
0,0166	5	0,18	28 à 34
0,025	5	0,19	24 à 31

Les résultats résumés dans ce tableau nous permettent d'admettre que, lorsqu'on utilise des solutions de glucosides digitaliques de concentrations différentes, les doses minima mortelles ainsi déterminées sont comparables entre elles à la condition d'effectuer les expériences de telle sorte que la mort survienne toujours dans le même laps de temps.

Dans les dosages que nous avons effectués, nous avons choisi arbitrairement pour la durée de l'expérience trente minutes, ce délai a été ainsi choisi pour que l'essai ne dure pas trop longtemps et que, néanmoins, le glucoside puisse se fixer suffisamment sur la fibre cardiaque.

CHAPITRE IV

DÉTERMINATION DES DOSES MINIMA MORTELLES DE QUELQUES POUDRES DE DIGITALE AVEC DES INFUSÉS DE CONCENTRATIONS DIVERSES

Etant donné les résultats obtenus dans le chapitre précédent, à partir de l'ouabaïne cristallisée, nous nous sommes proposé de doser comparativement à l'étalon international quelques poudres de digitale et en particulier une poudre que nous dénommons, dans le cours de ce travail, étalon du laboratoire. Cette poudre a été obtenue en mélangeant au mortier, puis en les tamisant, 3 K^{os} de poudre de digitale dont chaque kilogramme provenait de firmes différentes (ces poudres ont été désignées ci-après par les lettres M, N, O).

Tous nos essais ont été effectués en partie double, d'une part, sur la poudre étalon du laboratoire ou toute autre poudre dont nous voulions connaître la toxicité, d'autre part sur l'étalon international. Les dosages ont été effectués suivant la méthode exposée ci-dessus au chapitre I. Après avoir fixé dans chaque cas, par quelques essais préliminaires que nous ne rapportons pas ici, la valeur approximative de la poudre à doser, nous en avons déduit le rythme suivant lequel doit s'effectuer la perfusion pour que l'expérience ait une durée d'environ trente minutes. Nous avons pu alors poursuivre une nouvelle série d'expériences, rapportées dans les tableaux mentionnés dans ce travail.

Tout d'abord, nous nous sommes proposé de rechercher, en utilisant un même lot de poudre de digitale, si les résultats obtenus varient notablement suivant qu'on utilise des infusés à 2,5 ou à 1 %.

DOSES MINIMA MORTELLES D'UNE POUDRE DE DIGITALE,
DÉTERMINÉE A L'AIDE D'UN INFUSÉ A 2,5 %.

a) *Etalon du laboratoire.* — Nous avons déterminé la dose minima mortelle de la poudre étalon de laboratoire, dont les principes actifs

sont solubilisés dans un infusé à 2,5 %, en prenant la moyenne de 12 expériences effectuées dans des conditions sensiblement identiques.

TABLEAU V.

POIDS du chien en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé à 2,5 % perfusés pour amener la mort	NOMBRE de centimètres cubes perfusés par minute	DURÉE de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé à 2,5 % perfusés par kilogramme d'animal	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé par kilogramme d'animal rapporté à un infusé à 1 %	DOSE MINIMA mortelle de poudre de digitale par kilogramme d'animal en grammes
6,3	62	2,2	28	9,8	24,6	0,246
10,5	91,5	3,1	29	8,7	21,7	0,217
10,4	88	3	29	8,4	21,1	0,211
10,2	85	3,07	27,5	8,3	20,8	0,208
10,5	98,5	3,07	32	9,3	23,4	0,234
8	83	2,9	28	10,3	25,9	0,259
13	120	4	20	8	20	0,20
5	44,5	2	21,5	8,9	22,2	0,222
9,5	77	2,7	28	8,1	20,2	0,202
9	71,5	2,7	26	7,9	19,8	0,198
7,2	68	2	33	9,4	23,6	0,236
7,5	59,5	2,3	25	7,9	19,8	0,198

Dose minima mortelle moyenne, 0 gr. 221.

La dose minima mortelle de la poudre digitale étalon de laboratoire déterminée dans les conditions ci-dessus décrites est de 0 gr. 221 par kilogramme d'animal, autrement dit 1 gr. de poudre contient 4,49 doses mortelles pour le chien.

TABLEAU VI.

POIDS du chien en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé à 2,5 % perfusés pour amener la mort	NOMBRE de centimètres cubes perfusés par minute	DURÉE de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé à 2,5 % par kilogramme d'animal	NOMBRE de centimètres cubes par kilogramme d'animal rapporté à un infusé à 1 %	DOSE MINIMA mortelle de poudre de digitale par kilogramme d'animal en grammes
7,6	58	1,8	31	7,6	19	0,19
7,2	45	1,8	25	6,2	15,6	0,156
8	62,5	1,9	32	7,7	19,5	0,195
7,1	60,5	1,9	31,5	8,4	21,1	0,221
7	54,5	1,9	28,5	7,7	19,4	0,194
7,1	65	1,9	34	9,1	22,8	0,228
7,7	68,5	1,9	35	8,8	22,2	0,222

Dose minima mortelle moyenne, 0 gr. 199.

b). *Etalon international.* — Nous avons déterminé sur le chien la

dose minima mortelle de l'étalon international au moyen d'un infusé à 2,5 %. Nous avons pris la moyenne des expériences effectuées dans des conditions sensiblement identiques (le temps de l'expérience a varié de vingt-cinq à trente-quatre minutes.

La dose minima mortelle de poudre étalon, déterminée dans les conditions ci-dessus décrites, est de 0 gr. 199, autrement dit 1 gramme de poudre contient 5,02 doses mortelles pour le chien.

Conclusions. — Par le procédé de dosage indiqué ci-dessus, l'étalon du laboratoire titre donc 90 % de l'étalon international (1).

Après avoir effectué ces quelques essais, nous nous sommes demandé si l'infusé à 2,5 % contenait le maximum des produits actifs de la digitale et nous avons effectué l'expérience suivante.

Après avoir préparé de la façon habituelle l'infusé à 2,5 %, nous l'avons injecté à un premier chien pesant 6 K^{os} 2. La perfusion a été effectuée à raison de 2 cm³ par minute; après avoir reçu 66 cm³ de cet infusé le chien est mort. Nous avons alors préparé avec le marc du premier infusé un deuxième infusé à 2,5 % et nous en avons injecté pendant vingt-huit minutes 140 cm³ à un animal pesant 6 K^{os} 2, à raison de 5 cm³ par minute. Après ce temps, l'animal n'étant pas mort, nous avons remplacé ce dernier infusé par l'infusé initial et nous en avons injecté 26 cm³, soit les 2/5 de la dose mortelle, à raison de 2 cm³ à la minute jusqu'à la mort, c'est-à-dire pendant treize minutes. Ainsi le marc semble retenir environ 3/5 des principes actifs de la poudre de digitale. Aussi, bien que cette méthode nous fournisse une valeur relative d'une poudre par rapport à un étalon, détermination qui paraît avoir une certaine valeur, nous l'avons abandonnée, et nous avons employé de préférence dans nos essais, comme nous le décrivons ci-après, l'infusé à 1 % qui, d'après les différents auteurs et d'après les essais que nous avons effectués, contient la majorité des produits actifs de la digitale.

Cependant nous avons, au moyen de l'infusé à 2,5 %, étudié la valeur relative de trois poudres prélevées dans trois drogueries françaises différentes et de quelques poudres étrangères, et nous les avons comparées à l'étalon international.

Néanmoins, avant d'effectuer ces expériences, nous avons jugé bon d'examiner la teneur en eau des différentes poudres dont nous voulions déterminer la toxicité.

Teneur en H²O de quelques poudres de digitale. — Pour effectuer cette détermination nous avons placé les poudres soit pendant cinq jours à l'étuve à 80°, soit pendant douze heures à 100°, soit encore

1. En tenant compte du pourcentage d'eau que nous indiquerons ultérieurement, l'étalon du laboratoire titre 91 % de l'étalon international. 0 gr. 1 d'étalon du laboratoire a une activité égale à 0,9 unité internationale.

pendant huit jours dans le vide sulfurique. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau VII.

TABEAU VII.

POUDRE	QUANTITÉ sur laquelle est effectué le dosage en grammes	PERTE de poids en grammes	PERTE TOTALE ‰
Poudre M	2,1175	0,1225	5,78
Poudre N	1,0405	0,174	16,74
Poudre O	2,0120	0,1645	8,18
Étalon du laboratoire . .	2,0445	0,190	9,29
Standard	2,012	0,155	7,77

Les poudres examinées contiennent donc environ 8 % d'eau (étalon international et poudre O), tantôt plus de 8 % (poudre N et étalon du laboratoire), tantôt moins (poudre M).

Nous avons alors déterminé les doses minima mortelles de ces quelques poudres en fonction de l'étalon.

Voici, résumée dans le tableau VIII, l'activité comparée de ces diverses digitales. Bien entendu les chiffres trouvés dans nos essais ont été corrigés de façon à rapporter le résultat à un taux d'humidité d'environ 8 %.

TABEAU VIII.

POUDRES	NOMBRE d'expériences	DOSE minima mortelle par kilogramme en milligrammes	ACTIVITÉ comparée
Étalon international	7	198	100
Étalon laboratoire	12	220	88,6
Poudre M. (1)	5	210	93
Poudre N.	8	248	78
Poudre O.	5	220	88
Poudre P.	3	287	69
Poudre R.	3	192	97

1. Les poudres M, N, O, sont des poudres françaises ; les poudres P et R sont des poudres étrangères.

Variations en eau au cours des manipulations des diverses poudres.

— Après avoir effectué ces expériences, nous nous sommes demandé quelle était la quantité d'eau que pouvait absorber une poudre de digitale plus ou moins anhydre pendant le temps nécessaire à une pesée, soit environ cinq minutes. Les essais effectués nous ont montré qu'une poudre anhydre fixe en cinq minutes 0,6 % d'eau et qu'une poudre contenant de 3,5 à 8 % d'eau ne fixe dans le même temps que 0,04 % d'humidité : il s'ensuit que la manipulation d'une poudre contenant de 3 à 8 %.

d'eau ne peut donner lieu pratiquement à aucune cause d'erreur. Dans le tableau ci-joint se trouvent résumés les résultats obtenus dans ces essais.

TABLEAU VIII bis.

POURCENTAGE D'HUMIDITÉ des poudres	POURCENTAGE D'EAU acquis par une exposition à l'air de 5 minutes
Anhydre.	0,6
1	0,2
1,4	0,09
3,5	0,04
8	0,04

DOSE MINIMA MORTELLE DE LA DIGITALE
DÉTERMINÉE AVEC UN INFUSÉ A 1 ‰.

a) *Étalon du laboratoire.* — Nous avons déterminé la dose minima mortelle de l'étalon du laboratoire au moyen d'un infusé à 1 ‰ et nous avons pris la moyenne de six expériences effectuées dans des conditions identiques. Le temps de l'expérience varie dans ces essais de trente à trente-sept minutes et l'on injecte par kilogramme et par minute 0 gr. 0065 de poudre de digitale.

TABLEAU IX.

POIDS du chien en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé à 1 ‰ perfusés pour amener la mort	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé perfusés par minute	DURÉE de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé par kilogramme d'animal	DOSE minima mortelle de digitale par kilogramme d'animal en grammes
7,8 ♂	167	5	33	21,4	0,214
9,1 ♀	222	5,9	37	24	0,24
9,1 ♀	175	5,5	32	19,2	0,192
6,2 ♀	112	2,6	32	19,6	0,196
6,5 ♀	140	4,4	32	21,5	0,215
7,8 ♀	156	5,2	30	20	0,20

Dose minima mortelle moyenne par kilogramme, 0 gr. 209.

La dose minima mortelle de la poudre étalon du laboratoire, déterminée dans les conditions ci-dessus décrites, est de 0 gr. 209 par kilogramme d'animal. Elle contient donc 4,77 doses mortelles pour le chien par gramme.

b) *Étalon international.* — La dose minima mortelle de l'étalon inter-

national a été déterminée dans des conditions expérimentales identiques à celles utilisées pour la détermination de la dose minima mortelle de l'étalon du laboratoire. La quantité de poudre de digitale injectée dans les veines de l'animal par kilogramme et par minute est d'environ 0 gr. 0065.

TABLEAU X.

POIDS du chien en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé à 1 % perfusés pour amener la mort	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé perfusés par minute	DURÉE de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé par kilogramme d'animal	DOSE MINIMA mortelle de poudre de digitale par kilogramme d'animal en grammes
9,5 ♂ . . .	240	6	40	25	0,25
10 ♀ . . .	217	7	31	21,7	0,217
13,5 ♀ . . .	290	10	29	21,5	0,215
6,1 ♂ . . .	102	3,77	27,5	16,7	0,167
6 ♂ . . .	82	3,7	22	13,6	0,136

Dose minima mortelle moyenne par kilogramme d'animal, 0 gr. 197.

La dose minima mortelle de la poudre étalon international déterminée, dans les conditions ci-dessus décrites, est de 0 gr. 197. Ainsi 1 gr. de poudre étalon international contient 5,1 doses mortelles pour le chien.

CONCLUSION. — La valeur de l'étalon du laboratoire, déterminée au moyen d'un infusé à 1 %, est d'environ 94 % de l'étalon international ('). Elle est très voisine de la valeur obtenue avec l'infusé à 2,5 %. D'autre part, ces quelques expériences nous montrent que la sensibilité cardiaque du chien est nettement plus faible que celle du chat. En effet, alors qu'un infusé à 0,5 % amène la mort du chat avec une quantité de liquide de 15 à 20 cm³ par kilogramme, les essais effectués nous ont montré qu'il faut employer 45 à 50 cm³ du même infusé à 0,5 % pour provoquer la mort cardiaque du chien.

Cette faible sensibilité du cœur de chien à la digitale rend nécessaire l'emploi de quantités de liquide importantes. Pour éviter l'emploi d'un aussi grand volume, nous avons expérimenté une autre méthode déjà employée par HATCHER et BRODY (2) qui consiste à commencer l'intoxication de l'animal par un poison d'activité constante comme l'ouabaïne et à achever l'intoxication par la perfusion de l'infusé à titrer. Cette méthode sera décrite dans le chapitre suivant.

1. En tenant compte du pourcentage d'eau l'étalon du laboratoire titre 96 % de l'étalon international. 0 gr. 1 de poudre étalon du laboratoire a une activité de 0,96 unité internationale.

2. HATCHER et BRODY. *Journ. Amer. med. Ass.*, 1910, 82, p. 360.

CHAPITRE V

DÉTERMINATION DES DOSES MINIMA MORTELLES DE QUELQUES POUDRES DE DIGITALE APRÈS INJECTION PRÉALABLE D'UNE DOSE NON MORTELLE D'OUABAINÉ

Nous nous sommes demandé si nous ne pouvions pas abaisser considérablement la quantité de liquide contenant les principes actifs de la digitale en perfusant préalablement une quantité constante d'ouabaine. Nous avons à cet effet déterminé les toxicités relatives de l'étalon du laboratoire et de l'étalon international en injectant préalablement soit environ 70 %, soit 56 % de la dose mortelle d'ouabaine. La dose minima mortelle de l'ouabaine cristallisée NATIVELLE a été déterminée par la même méthode de perfusion lente chez le chien par JEANNE LÉVY et R. CAHEN ⁽¹⁾ qui ont trouvé que la dose minima mortelle d'ouabaine déterminée par cette méthode est de 0 milligr. 1364 pour le produit anhydre et de 0 milligr. 176 pour le produit cristallisé à 9 molécules d'eau.

Nous avons utilisé le produit cristallisé à 9 H₂O contenant 21,33 % d'eau. Nous avons toujours préparé la solution injectable de la même façon. Cette solution contient 0 milligr. 025 d'ouabaine cristallisée par centimètre cube : elle est préparée extemporanément à partir d'une solution mère obtenue en dissolvant 250 milligr. d'ouabaine cristallisée dans 100 cm³ d'alcool absolu.

DOSE MINIMA MORTELLE DE DIGITALE DÉTERMINÉE APRÈS INJECTION PRÉALABLE
DE 70 % DE LA DOSE MORTELLE D'OUABAINÉ.

a) *Etalon du laboratoire.* — Nous avons injecté préalablement environ 70 % de la dose mortelle d'ouabaine, soit plus exactement 0 milligr. 0825 par kilogramme et par minute pendant les quinze premières minutes de

1. JEANNE LÉVY et R. CAHEN, *Paris médical*, 1929, 19, 587.

l'expérience; puis nous avons injecté un infusé à 1 % préparé avec la poudre étalon de laboratoire, à raison d'environ 0 gr. 0065 par kilogramme et par minute et nous avons pris la moyenne des expériences effectuées dans des conditions sensiblement identiques (le temps de l'expérience a varié de vingt-quatre à trente-trois minutes).

TABEAU XI.

POIDS du chien en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaïne contenant 0 milligr. 025 par centimètre cube perfusés	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaïne perfusés par minute	DURÉE de la perfusion d'ouabaïne en minutes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé de digitale à 1 % perfusés pour donner la mort	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé perfusés par minute	DURÉE de la perfusion de digitale en minutes	DURÉE totale de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé de digitale à 1 % perfusés par kilogramme d'animal	DOSE MINIMA MORTELLE de poudre de digitale par kilogramme, en grammes
8 ♂ . . .	40,4	2,7	15	78	6	13	28	9,7	0,097
6,4 ♂ . . .	32	2,4	15	41	4,7	9	24	6,4	0,064
6,9 ♂ . . .	34,5	2,3	15	63,5	4	16	31	9,2	0,092
6,4 ♂ . . .	32,5	2,2	15	64,5	3,9	17	32	9,4	0,094
7,4 ♂ . . .	37	2,5	15	77	4,5	18	33	10,4	0,104
Dose minima mortelle moyenne par kilogramme d'animal, 0 gr. 09.									

Ainsi, après avoir injecté une dose de 0 milligr. 125 d'ouabaïne cristallisée par kilogramme d'animal en quinze minutes, il faut injecter une dose de 0,09 par kilogramme d'animal de poudre de digitale étalon de laboratoire pour amener la mort de l'animal.

b) *Étalon international.* — Les essais ont été effectués dans les mêmes conditions que pour l'étalon du laboratoire.

Ainsi, ayant injecté une dose de 0 milligr. 125 d'ouabaïne cristallisée par kilogramme d'animal dans les conditions ci-dessus décrites, il faut injecter une dose de 0 gr. 087 de poudre de digitale étalon international par kilogramme pour provoquer la mort de l'animal.

Si l'on calcule le rapport de l'étalon du laboratoire à l'étalon international on trouve que le premier titre environ 96 % du second. Comme les résultats antérieurs effectués avec des infusés à 2,5 % et à 1 % montrent que l'étalon du laboratoire a une valeur variant de 91 à 96 %, environ de l'étalon international il s'ensuit que les résultats acquis dans les tableaux XI et XII paraissent tout aussi exacts que les précédents. Cependant, nous avons craint qu'à ce que la méthode gagne comme économie de liquide ne soit perdu en sensibilité et nous avons alors effectué une nouvelle série d'expériences en injectant préalablement une quantité d'ouabaïne un peu inférieure à la précédente.

TABLEAU XII.

POIDS du chien en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaïne contenant 0 milligr. 025 par centimètre cube perfusés	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaïne perfusés par minute	DURÉE de la perfusion d'ouabaïne en minutes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé de digitale à 1 % perfusés pour donner la mort	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé perfusés par minute	DURÉE de la perfusion de digitale en minutes	DURÉE totale de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé de digitale à 1 % perfusés par kilogramme d'animal	DOSE MINIMA MORTELLE de poudre de digitale par kilogramme, en grammes
8 ♀ . . .	2,6	40	15	60	5	12	27	7,5	0,075
6,1 ♀ . . .	2	30,5	15	50	3,6	14	29	8,2	0,082
8 ♀ . . .	2,6	40	15	94	4,8	19	34	11,7	0,117
6 ♂ . . .	2	30	15	55	3,5	16	31	9,1	0,091
6 ♂ . . .	2	30	15	43	3,5	13	28	7,2	0,072

Dose minima mortelle moyenne par kilogramme, 0 gr. 087.

Comme nous le verrons dans les tableaux XIII et XIV, cette méthode nous a donné des résultats suffisamment précis pour pouvoir fournir la base d'un dosage biologique.

DOSE MINIMA MORTELLE DE DIGITALE DÉTERMINÉE APRÈS INJECTION PRÉALABLE DE 56 % DE LA DOSE MORTELLE D'OUABAÏNE.

a) *Étalon du laboratoire.* — Nous avons injecté pendant les quinze premières minutes de l'expérience une dose d'ouabaïne égale environ à 56 % de la dose mortelle d'ouabaïne, soit, plus exactement, 0 milligr. 065 par kilogramme et par minute. Puis nous avons injecté l'infusé de digitale à raison d'environ 0 gr. 011 par kilogramme et par minute jusqu'à la mort de l'animal. Nous avons pris la moyenne de huit expériences dans lesquelles la durée de perfusion varie de trente à trente-neuf minutes.

Après avoir injecté préalablement 0 milligr. 105 d'ouabaïne cristallisée par kilogramme d'animal la dose minima mortelle de poudre de digitale de l'étalon de laboratoire est de 0 gr. 177 par kilogramme d'animal.

b) *Étalon international.* — Nous avons effectué nos essais dans les mêmes conditions que pour l'étalon du laboratoire.

Dans les conditions ci dessus indiquées et après avoir injecté préalablement 0 milligr. 105 d'ouabaïne cristallisée par kilogramme d'animal, la dose minima mortelle de poudre étalon international est de 0 gr. 154.

Si l'on fait, d'après les résultats des tableaux XIII et XIV, le rapport de l'étalon du laboratoire à l'étalon international, on trouve que le pre-

TABLEAU XIII.

POIDS du chien en Kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaine contenant 0 milligr. 025 par centimètre cube perfusés	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaine perfusés par minute	DURÉE de la perfusion d'ouabaine en minutes	NOMBRE DE CENTIMÈTRES CUBES d'infusé de digitale à 1 % perfusés pour donner la mort	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé injectés par minute	DURÉE de la perfusion de digitale en minutes	DURÉE totale de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé de digitale à 1 % perfusés par kilogramme d'animal	DOSE MINIMA MORTELLE de poudre de digitale par kilogramme en grammes
5,8	22	1,5	15	95	4	24	39	16,3	0,163
10,5	38,9	2,6	15	148	8	18	33	14,0	0,14
7,8	29,6	2,2	15	134	7,8	17	32	17	0,17
8,7	33	2,2	15	152	9	17	32	17,4	0,174
7,6	28,8	1,9	15	156	7,8	20	35	20,5	0,205
6,6	25	1,6	15	130	7,5	17	32	19,7	0,197
9	34,2	2,2	15	163	10,8	15	30	18,1	0,181
7,8	29,6	2	15	140	9,3	15	30	17,9	0,179

Dose minima mortelle moyenne par kilogramme d'animal, 0 gr. 177.

TABLEAU XIV.

POIDS du chien en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaine contenant 0 milligr. 025 par centimètre cube perfusés	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaine perfusés par minute	DURÉE de la perfusion d'ouabaine en minutes	NOMBRE DE CENTIMÈTRES CUBES d'infusé de digitale à 1 % perfusés pour donner la mort	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé perfusés par minute	DURÉE de la perfusion de digitale en minutes	DURÉE totale de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes de digitalo à 1 % perfusés par kilogramme d'animal	DOSE MINIMA MORTELLE de poudre de digitale par kilogramme, en grammes
8,8	33,5	2,2	15	124	10	13	28	14,07	0,1407
6,8	25,8	1,7	15	110	6,8	16	31	16,16	0,1616
7	26,6	1,8	15	113	7,7	15	30	16,1	0,161

Dose minima mortelle moyenne par kilogramme d'animal, 0 gr. 154.

mier titre 87 % du second. Ces résultats concordent avec ceux qui ont été obtenus au moyen de l'infusé à 1 % (1).

Sans doute l'économie du liquide est minime puisque en employant

1. En tenant compte du pourcentage d'eau l'étalon du laboratoire titre 88 % de l'étalon international. 0 gr. 1 de poudre étalon du laboratoire a une activité égale à 0,88 unité internationale.

successivement une solution d'ouabaïne et un infusé à 1 % de digitale on perfuse en totalité dans les veines du chien de 18 à 20 cm³ de liquide par kilogramme, tandis que lorsqu'on emploie uniquement l'infusé on perfuse de 20 à 22 cm³ de liquide par kilogramme d'animal. L'avantage de cette méthode, par surcroît très régulière, est de n'utiliser que 13 à 17 cm³ d'infusé par kilogramme d'animal, ce qui offre un gros intérêt si l'on ne possède qu'un échantillon peu abondant de poudre de digitale. Ce qui est d'ailleurs toujours le cas avec l'étalon international.

Nous avons effectué une série de nouvelles expériences afin de véri-

TABLEAU XV.

POIDS DU CHIEN en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'infusé à 1 % de digitale étalon de laboratoire perfusés	NOMBRE de centimètres cubes perfusés par minute	DURÉE de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes de solution d'ouabaïne à 0 milligr. 025 par centimètre cube perfusés pour amener la mort	NOMBRE de centimètres cubes de solution d'ouabaïne perfusés par minute	DURÉE de la perfusion d'ouabaïne en minutes	DURÉE totale de l'expérience en minutes	DOSE minima mortelle d'ouabaïne perfusée par kilogramme d'animal	
								en centimètres cubes	en milligrammes
8	141,6	9,4	15	34	2	15,5	30,5	3,85	0,096
6	106,2	7	15	48	4,5	12	27	3	0,075
9	159,2	10,6	15	27	2,3	12	27	3	0,075
7,4	130,9	8,7	15	34	1,8	17	32	4,1	0,102
8	141,6	9,4	15	25	2	12	27	3,1	0,077
5,8	102,6	6,8	15	21	1,4	14	29	3,6	0,090

Dose minima mortelle moyenne d'ouabaïne cristallisée par kilogramme d'animal, 0 milligr. 086.

fier une hypothèse émise sur l'activité des différents glucosides cardiaques. D'après les propriétés pharmacodynamiques comparées des glucosides de la digitale et de l'ouabaïne, il ressort que cette dernière se fixe plus rapidement sur la fibre cardiaque que la digitaline. Il s'ensuit que si l'on effectue le dosage des poudres de digitale, non plus en injectant préalablement l'ouabaïne, mais au contraire en perfusant primitivement l'infusé de digitale, il faudrait moins d'ouabaïne pour obtenir la mort de l'animal. Nous avons effectué une série d'expériences dans lesquelles nous avons perfusé, pendant les quinze premières minutes, la moitié de la dose minima mortelle d'infusé de digitale à 1 % déterminée dans les essais réunis dans le tableau XIII, soit 0 gr. 0885 par kilogramme. Après les quinze premières minutes nous

avons commencé la perfusion d'une solution d'ouabaïne contenant 0 milligr. 025 par centimètre cube à raison de 0 milligr. 0625 d'ouabaïne par kilogramme et par minute. Ces expériences nous ont montré que la dose minima mortelle d'ouabaïne moyenne est dans ces conditions de 0 milligr. 086, dose un peu inférieure à la dose injectée précédemment, 0 milligr. 096 par kilogramme, comme il était d'ailleurs logique de s'y attendre (voir tableau XV).

CHAPITRE VI

DÉTERMINATION DES DOSES MINIMA MORTELLES DE QUELQUES POUDRES DE DIGITALE AU MOYEN DE TEINTURES ALCOOLIQUES

Avant d'entreprendre les dosages à partir des teintures de digitale, nous nous sommes assuré que, dans ces expériences, les quantités d'alcool injectées à l'animal ne modifient pas ses réactions.

Ayant constaté que la dose minima mortelle d'une poudre de digitale de la région des Vosges est 0 gr. 303 par kilogramme d'animal, nous avons déterminé à nouveau la dose minima mortelle de cette poudre, en ajoutant à l'infusé 13,5 % de son poids d'alcool à 70°, pourcentage d'alcool sensiblement voisin de celui qui est injecté dans la majorité des cas à un animal, lorsqu'on utilise une teinture au 1/10. Les résultats obtenus dans ces conditions nous ont fourni comme dose minima mortelle la valeur de 0 gr. 291. Nous sommes donc autorisé à admettre que les doses d'alcool n'influent pas sur la mort cardiaque causée par la digitale ¹.

I. DÉTERMINATION DE LA DOSE MINIMA MORTELLE A L'AIDE DE TEINTURES PRÉPARÉES PAR LIXIVIATION.

1° *Dose minima mortelle déterminée à l'aide d'une solution hydro-alcoolique à 2,5 %. Etalon de laboratoire.* — La teinture préparée par lixiviation à partir de l'étalon de laboratoire a été diluée de telle sorte qu'elle fournisse une solution hydro-alcoolique à 2,5 %. En pratique 12 cm³ 5 de teinture au 1/5 sont étendus à 100 cm³ avec de l'eau distillée.

1. Cependant nous avons noté avec une constance remarquable pour les solutions hydro-alcooliques une légère augmentation de la pression artérielle et des mouvements musculaires *post mortem*.

Les expériences effectuées avec cette solution, qui sont résumées dans le tableau XVI, nous montrent que la dose minima mortelle de poudre est d'environ 0 gr. 240, résultat inférieur à celui qui a été obtenu à partir de l'infusé à 2,5 % (0 gr. 220).

TABEAU XVI.

POIDS du chien en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes de solution hydro-alcoolique de digitale à 2,5 % perfusés pour donner la mort	NOMBRE de centimètres cubes de solution hydro-alcoolique perfusés par minute	DURÉE de la perfusion en minutes	QUANTITÉ d'alcool à 70° introduite dans l'organisme en grammes	NOMBRE de centimètres cubes de solution hydro alcoolique à 2,5 % injecté par kilogramme d'animal	NOMBRE de centimètres cubes par kilogramme d'animal ramené à une solution à 1 %	DOSE MINIMA MORTELLE de poudre de digitale par kilogramme d'animal en grammes
8,8	88,5	2,5	33	10,6	9,7	24,25	0,2425
9	90	2,7	33	11,25	10	25	0,250
8	72	2,6	28	8,9	9	22,50	0,225
8	78	2,5	34	9,75	9,7	24,25	0,245

Dose minima mortelle moyenne par kilogramme d'animal, 0 gr. 240.

Les résultats résumés dans le tableau ci-dessus nous ont incité à chercher s'il n'était pas possible de titrer directement une teinture officinale au 1/10 en l'amenant par dilution à correspondre à un infusé de 1 % et en intoxiquant préalablement l'animal avec une certaine quantité d'ouabaïne.

2° *Détermination de la dose minima mortelle d'une teinture au 1/10 par injection préalable de 56 % de la dose mortelle d'ouabaïne.* — La teinture au 1/5 est diluée de moitié avec de l'alcool à 70°, puis 20 gr. de cette solution alcoolique sont étendus au 1/10 avec de l'eau physiologique.

a) *Etalon de laboratoire.* — Nous avons injecté pendant les quinze premières minutes de l'expérience une dose de 0 milligr. 0065 d'ouabaïne cristallisée par kilogramme d'animal et par minute, puis nous avons terminé l'intoxication par perfusion lente d'une solution hydro-alcoolique de digitale à 1/100, à raison de 0 gr. 0114 par kilogramme et par minute, préparée à partir d'une teinture au 1/10.

Les résultats obtenus sur six animaux sont consignés dans le tableau XVII.

La dose minima mortelle de la poudre étalon du laboratoire, déterminée dans les conditions décrites ci-dessus, est de 0 gr. 145, nombre un peu inférieur à la valeur obtenue par la même méthode avec l'infusé à 1 % (0 gr. 176).

TABLEAU XVII.

POIDS DU CHIEN en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaïne à 0 milligr. 025 par centimètre cube perfusés	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaïne perfusés par minute	DURÉE de la perfusion d'ouabaïne en minutes	NOMBRE de centimètres cubes de solution hydro-alcoolique au 1/100 de digitale perfusés pour amener la mort	NOMBRE de centimètres cubes de solution hydro-alcoolique de digitale perfusés par minute	DURÉE de la perfusion de digitale en minutes	DURÉE totale de l'expérience en minutes	NOMBRE de centimètres cubes de solution hydro-alcoolique à 1/100 perfusés par kilogramme d'animal	DOSE MINIMA MORTELLE de poudre de digitale par kilogramme d'animal en grammes
7	26,6	1,5	15	100	8	13	28	14,5	0,145
6,6	25	1,6	15	110	7,5	15	30	16,6	0,166
6,3	24,1	1,6	15	98	7	14	29	15,6	0,156
11	41,8	2,8	15	120	11	11	26	10,9	0,109
8,9	33,8	2,12	15	145	9	15	30	16,3	0,163
8,3	31,5	2,1	15	110	8,5	15	28	13,2	0,132

Dose minima mortelle moyenne par kilogramme d'animal, 0 gr. 115.

b) *Etalon international.* — En ce qui concerne les expériences effectuées avec l'étalon international, nous nous sommes placé dans des conditions identiques à celles qui ont été observées avec l'étalon du laboratoire. Mais les petites quantités d'étalon international dont nous

TABLEAU XVIII.

POIDS DU CHIEN en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaïne à 0 milligr. 025 par centimètre cube perfusés	NOMBRE de centimètres cubes d'ouabaïne par minute	DURÉE de la perfusion d'ouabaïne en minutes	NOMBRE de centimètres cubes de solution hydro-alcoolique de digitale au 1/100 perfusés pour donner la mort	NOMBRE de centimètres cubes de solution hydro-alcoolique de digitale par minute	DURÉE de la perfusion de digitale en minutes	DURÉE totale de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes de digitale perfusés par kilogramme d'animal	DOSE MINIMA MORTELLE de poudre de digitale par kilogramme d'animal en grammes
7	26,6	1,7	15	96	6	16	31	13,7	0,137
6,3	23,9	1,6	15	78	5,4	14	29	12,3	0,123
6,5	24,7	1,6	15	110	5,6	20	35	16,9	0,169
6,5	24,7	1,6	15	127	5,6	21	36	18	0,180
8,3	31,5	2	15	91,5	6,8	14	29	11,02	0,1102
7	26,6	1,7	15	97	6	16	31	13,8	0,138
6,5	24,7	1,6	15	98	5,6	17	32	15	0,150
7	26,6	1,7	15	116	6	19	34	16,5	0,165

Dose minima mortelle moyenne par kilogramme d'animal, 0 gr. 148.

dispositions ne nous ont pas permis de faire une lixiviation dans de bonnes conditions, aussi les résultats obtenus qui sont consignés dans le tableau XVIII ne nous semblent pas suffisamment précis pour que nous puissions en tenir compte et ils sont sans doute trop élevés.

II. DÉTERMINATION DE LA DOSE MINIMA MORTELLE
D'UNE POUDRE DE DIGITALE AU MOYEN DE MACÉRATIONS ALCOOLIQUES
EFFECTUÉES DURANT VINGT-QUATRE HEURES.

1. *Macération diluée avant filtration :*

Etalon de laboratoire. — Les essais ont été effectués à partir d'une solution hydro-alcoolique à 1/100 préparée par dilution, avant filtration, d'une solution extractive obtenue par macération au 1/5 de poudre de digitale dans l'alcool à 70° pendant vingt-quatre heures.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau XIX; l'injection de la solution de digitale est précédée de la perfusion lente, dans les conditions ci-dessus décrites, d'une solution d'ouabaïne, à raison de 0 milligr. 0065 par kilogramme et par minute.

TABEAU XIX.

POIDS DU CHIEN en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes de solution d'ouabaïne à 0 milligr. 035 par centimètre cube perfusés	NOMBRE de centimètres cubes de solution d'ouabaïne perfusés par minute	DI RÈG de la perfusion d'ouabaïne en minutes	NOMBRE de centimètres cubes de macération à 1 % perfusés pour amener la mort	NOMBRE de centimètres cubes de macération à 1 % perfusés par minute	DURÉE de la perfusion de digitale en minutes	DURÉE totale de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes de macération à 1 % perfusés par kilogramme d'animal	DOSE MINIMA MORTELLE de poudre de digitale par kilogramme d'animal en grammes
9	34,2	2,3	15	70	9	8	23	7,7	0,077
8	30,4	2	15	140	8	17	32	17,5	0,175
8	30,4	2	15	40	8	5	20	5	0,005
7,4	28,1	1,8	15	45	7,5	6	21	6	0,006
7	26,6	1,8	15	105	7	15	30	15	0,15
8,9	33,8	2,2	15	162	9	18	33	18,2	0,182
9,5	36	2,4	15	114	9,5	12	27	12	0,12
6,8	25,8	1,7	15	46	6,8	7	22	6,7	0,067
7,3	27,7	1,8	15	88	7,3	12	27	12	0,12

Dose minima mortelle moyenne par kilogramme, 0 gr. 102.

Les résultats consignés dans ce tableau sont extrêmement irréguliers puisque, dans les différentes expériences, la dose minima mortelle varie du simple au double.

Nous avons pensé que les irrégularités rencontrées dans cette méthode étaient dues au procédé utilisé pour solubiliser les constituants actifs de la digitale dans l'eau. La dilution aqueuse de la teinture alcoolique en présence de la poudre contribue probablement à la formation de matières colloïdales pouvant provoquer la mort de l'animal, sans doute par shock, d'une façon plus ou moins rapide.

Nous avons alors préparé un peu différemment la solution injectable. Nous avons primitivement filtré la solution alcoolique après macération de vingt-quatre heures, puis dilué le filtrat de manière à obtenir une solution hydro-alcoolique au 1/100.

2. Macération filtrée avant dilution :

a) *Etalon du laboratoire.* — Nous avons effectué nos expériences avec une solution hydro-alcoolique au 1/100 préparée par dilution, après filtration, d'une solution alcoolique au 1/5 de poudre de digitale ayant macéré pendant vingt-quatre heures.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau XX, l'injection

TABEAU XX.

POIDS DU CHIEN en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes de solution d'ouabaine à 0 milligr. 025 par centimètre cube perfusés	NOMBRE de centimètres cubes de solution d'ouabaine perfusés par minute	DURÉE de la perfusion d'ouabaine en minutes	NOMBRE de centimètres cubes de macération à 1 % perfusés pour amener la mort	NOMBRE de centimètres cubes de digitale perfusés par minute	DURÉE de la perfusion de digitale en minutes	DURÉE totale de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes de macération à 1 % perfusés par kilogramme d'animal	DOSE MINIMA MORTELLE de poudre de digitale par kilogramme d'animal en grammes
9	34,2	2,3	15	108	9	12	27	42	0,120
9,2	35	2,3	15	138	8	16	34	43	0,150
10	38	2,5	15	102	10	11	26	40,2	0,102
8,3	32	2,1	15	78	8,5	10	25	9,2	0,092
7,8	29,6	1,8	15	92	6,5	14	29	11,8	0,118
6	22,8	1,5	15	71	5	14	29	11,8	0,118
8,1	30,7	2	15	85	6,7	13	28	10,5	0,105
6,4	24,3	1,6	15	80	5,3	15	30	12,5	0,125
6,5	24,7	1,7	15	108	5,4	20	35	16,6	0,166
6,8	25,8	1,8	15	102	5,6	18	33	15	0,150

Dose minima mortelle moyenne par kilogramme. 0 gr. 124.

de la solution de digitale est précédée de la perfusion lente, dans les conditions ci-dessus décrites, d'une solution d'ouabaine à raison de 0 milligr. 0065 par kilogramme et par minute.

La dose minima mortelle de la poudre étalon du laboratoire, déter-

minée dans les conditions ci-dessus décrites, est de 0 gr. 124 par kilogramme.

b) *Étalon international.* — Les expériences effectuées à partir de l'étalon international ont été conduites de façon identique à celles qui ont été faites avec l'étalon du laboratoire.

Les résultats sont consignés dans le tableau XXI.

TABLEAU XXI.

POIDS DU CHIEN en kilogrammes	NOMBRE de centimètres cubes de solution d'ouabaïne à 0 milligr. 025 par centimètre cube perfusés	NOMBRE de centimètres cubes de solution d'ouabaïne perfusés par minute	DURÉE de la perfusion d'ouabaïne en minutes	NOMBRE de centimètres cubes de macération à 1 % perfusés pour amener la mort	NOMBRE de centimètres cubes de digitale perfusés par minute	DURÉE de la perfusion de la digitale en minutes	DURÉE totale de la perfusion en minutes	NOMBRE de centimètres cubes de macération à 1 % perfusés par kilogramme d'animal	DOSE MINIMA MORTELLE de poudre de digitale par kilogramme d'animal en grammes
6,2 Q	23,5	1,5	15	66	4,5	15,5	30,5	10,6	0,106
6 Q	22,8	1,5	15	58	4,4	13	28	9,6	0,096
8 Q	30,4	2	15	69	5,6	13	28	8,6	0,086
7,7 Q	29,2	5,4	15	125	5,4	22	37	16,2	0,162
7,4 Q	28,1	5,2	15	114	5,2	21	36	15,4	0,154
7,3 Q	27,7	5,1	15	64	5,1	12	27	8,7	0,087
6,5 Q	24,7	4,5	15	74	4,5	17	32	11,3	0,077
10,4 Q	39,5	2,6	15	79	7,3	12	27	7,6	0,076
8,5 Q	32,3	2,1	15	66	6	11	26	7,7	0,077
Dose minima mortelle par kilogramme, 0 gr. 106.									

La dose minima mortelle de l'étalon international, déterminée dans les conditions ci-dessus décrites, est de 0 gr. 106 par kilogramme d'animal.

Si l'on fait, d'après les résultats des essais énumérés dans les tableaux XX et XXI, le rapport de l'étalon du laboratoire à l'étalon international, on trouve que le premier titre 85 % du second, valeur qui se rapproche de celles qui ont été trouvées par d'autres méthodes.

CHAPITRE VII

ÉVALUATION DES ERREURS COMMISES DANS LA DÉTERMINATION DE LA DOSE MINIMA MORTELLE D'UNE POUDRE DE DIGITALE PAR LA MÉTHODE DE HATCHER-MAGNUS APPLIQUÉE AU CHIEN

La dose minima mortelle d'une poudre de digitale déterminée par la méthode de HATCHER-MAGNUS peut être définie comme la plus petite dose qui provoque la mort de l'animal utilisé. Elle est pratiquement déterminée en prenant la moyenne des doses mortelles obtenues dans une série de quelques essais rigoureusement identiques.

Des règles générales ont été formulées par divers auteurs pour calculer, à partir des données expérimentales, la valeur relative des poudres de digitale et pour fixer le plus exactement possible l'erreur qui peut être commise dans cette détermination. En premier lieu, il s'agit de savoir si l'on doit calculer la dose minima mortelle en prenant la moyenne de tous les essais, même si certaines déterminations ont été effectuées sur des animaux particulièrement résistants. Or, d'une part, certains auteurs, LIND VAN WIJNGAARDEN ⁽¹⁾, HASKELL ⁽²⁾, EGGLESTON ⁽³⁾, éliminent systématiquement ces chiffres aberrants des moyennes, notamment lorsque l'écart moyen pour cent, déduit en tenant compte d'une détermination aberrante, dépasse une valeur arbitrairement fixée d'après certaines données formulées par CHAUVENET ⁽⁴⁾. D'autres auteurs, au contraire, s'appuyant sur les calculs des statistiques (BURN, TREVAN), en tiennent compte.

Dans les expériences que nous avons effectuées, nous avons suivi les

1. LIND VAN WIJNGAARDEN. *Archiv. fur. exp. Pat. und Pharm.*, 1926, **113**, p. 52.

2. HASKELL. *Journ. of Pharm. and Ther.*, 1928, **33**, p. 207.

3. EGGLESTON et CARRY. *Amer. Journ. Pharm.*, 1923, **85**, p. 99.

4. CHAUVENET. *Manual of Spherical and Practical Astronomy*, 2, p. 564.]

règles exprimées par BURN et nous n'avons pas écarté les chiffres aberrants.

D'autre part, à la base de ces dosages repose une question d'intérêt pratique. Il s'agit de déterminer le nombre minimum d'essais nécessaires pour qu'un dosage soit correct. LIND VAN WIJNGAARDEN qui a examiné ce problème l'a résolu en considérant que l'écart moyen pour cent doit être inférieur à $a\sqrt{n-1}$ pour qu'une série de n déterminations soit considérée comme suffisante.

Cet auteur définit l'écart moyen « ε » comme la moyenne des écarts obtenus en faisant la différence entre la valeur d'une détermination et la valeur moyenne M de l'ensemble des titrages effectués. L'écart moyen pour cent est donné par la formule $\frac{100\varepsilon}{M}$. La lettre « a » représente l'erreur maxima moyenne pour cent, LIND VAN WIJNGAARDEN a choisi pour « a » la valeur de 6,67 qui représente la précision exigée par la pharmacopée hollandaise et qui se trouve être justement la moitié de l'écart moyen pour cent calculé dans une série de 573 déterminations effectuées par cet auteur sur le chat.

Ainsi, d'après la règle de LIND VAN WIJNGAARDEN, pour effectuer un dosage de poudre de digitale, il faut continuer les essais jusqu'à ce que l'écart moyen pour cent calculé d'après les déterminations expérimentales soit inférieur à $6,67\sqrt{n-1}$ (n étant le nombre de déterminations effectuées).

Nous avons pour un certain nombre de nos séries d'essais effectué le calcul de l'écart moyen pour cent. Nous donnons ci-joint dans le tableau XXII les calculs effectués d'après les résultats résumés dans le tableau V.

TABLEAU XXII.

NOMBRE DE CENTIMÈTRES CUBES D'INFUSÉ par kilogramme d'animal	ÉCART DE CHAQUE DÉTERMINATION avec la moyenne qui est 22
24,6	2,6
21,7	0,3
21,1	0,9
20,8	1,2
23,4	1,4
25,9	3,9
20	2
22,2	0,2
20,2	1,8
19,8	2,2
23,6	1,6
19,8	2,2
Moyenne : 22; écart moyen : 1,7; écart moyen % : 7,68. $6,67\sqrt{n-1}=22$.	

D'une façon générale dans les expériences que nous avons décrites l'écart moyen pour cent est inférieur à $6,67\sqrt{n-1}$ comme le montre le tableau XXIII.

TABLEAU XXIII.

NUMÉRO D'ORDRE des tableaux dans lesquels sont résumées les expériences qui nous ont servi pour les calculs	NOMBRE de chiens	ÉCART MOYEN pour cent	$6,67\sqrt{n-1}$
5	12	7,68	22
6	7	9,6	18,9
9	6	6,45	14,9
10	5	18,4	13,3
11	5	11,7	13,3
12	4	14,9	13,3
13	8	8,06	17,6
14	3	5,8	9,4

D'autre part, TREVAN propose de calculer dans chaque série d'expériences l'écart individuel moyen, qui représente la moyenne des erreurs que l'on est susceptible de commettre quand on diminue le nombre des essais. On peut calculer l'écart individuel moyen comme suit :

Soit « n » le nombre d'expériences effectuées;

« d », la moyenne des écarts entre chacune des déterminations des doses mortelles et la dose mortelle moyenne, en un mot l'écart moyen de LIND VAN WIJNGAARDEN.

L'écart individuel moyen est donné par la formule $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}}$.

L'écart individuel moyen E étant déterminé, TREVAN calcule que dans

TABLEAU XXIV.

NUMÉRO D'ORDRE des tableaux dans lesquels sont résumées les expériences qui nous ont servi dans nos calculs	NOMBRE de chiens	100 E	300 E	DOSE minima mortelle de poudre de digitale par kilogramme d'animal en grammes	ERREUR maxima %
5	12	0,585	1,755	0,22 $\pm$ 0,0175	7
6	7	0,95	2,85	0,199 $\pm$ 0,0285	13
9	6	0,72	2,16	0,209 $\pm$ 0,0216	10
10	5	2,02	6,06	0,199 $\pm$ 0,0606	30
11	5	0,686	2,04	0,9 $\pm$ 0,0204	22
12	4	0,806	2,40	0,87 $\pm$ 0,0240	30
13	8	0,695	2,07	0,177 $\pm$ 0,0207	11
14	3	0,93	2,79	0,1544 $\pm$ 0,0279	18

une série de n dosages la valeur $(M \pm E)$ est sujette à erreur 1 fois sur 3, la valeur $(M \pm 2 E)$ 1 fois sur 22 et la valeur $(M \pm 3 E)$ 1 fois sur 370.

Nous avons dans un certain nombre d'essais calculé l'écart individuel moyen et nous en avons déduit l'erreur maxima pour cent $\frac{300 E}{M}$ qui peut être commise dans les essais. Nous donnons dans le tableau XXIV le résumé des résultats que nous avons obtenus.

De cette série de déterminations nous pouvons conclure que les expériences réunies dans les tableaux V et VI, d'une part, et dans les tableaux XIII-XIV, d'autre part, peuvent être considérées comme correctes. Nous en déduisons que la poudre étalon du laboratoire titre de 88 à 91 % de l'étalon international et que l'erreur qui résulte de ces dosages est au maximum de 18 %.

CONCLUSIONS

1° La méthode d'HATCHER-MAGNUS, pour le dosage biologique des glucosides cardiotoniques par perfusion intraveineuse lente chez le chat, peut être appliquée également avec succès chez le chien.

2° Les résultats obtenus avec un glucoside pur comme l'ouabaïne sont constants, même si on emploie cette substance à des dilutions différentes, pourvu que la vitesse de perfusion soit réglée pour que la mort de l'animal survienne dans le même laps de temps, d'ailleurs arbitrairement choisi dans nos essais, de vingt-cinq à trente-cinq minutes.

3° Cette méthode a été appliquée pour le dosage de diverses poudres de digitale. Elle nous a donné des résultats suffisamment constants en recourant à des infusés à 1 ou 2,5 %.

4° L'application de la méthode de HATCHER et BRODY, qui consiste à commencer l'intoxication avec un poison d'action constante comme l'ouabaïne et à terminer la perfusion avec le produit à doser, nous a donné d'excellents résultats. Cependant, il résulte de nos essais qu'il ne faut pas injecter plus de 56 % de la dose minima mortelle de l'ouabaïne pour pouvoir établir une méthode de dosage suffisamment sensible.

5° Enfin dans une dernière série d'essais nous avons pu montrer qu'il est possible de doser directement des teintures de digitale au 1/10. Les teintures peuvent être préparées par simple macération d'une poudre de digitale dans l'alcool à 70 % pendant vingt-quatre heures et filtration de la solution alcoolique ainsi préparée. Elles sont ensuite diluées au moyen d'eau distillée et perfusées lentement suivant la méthode de HATCHER-MAGNUS :

6° L'erreur maxima commise dans de telles déterminations ne dépasse pas 18 %.

Vu : *Le Président de la Thèse,*
GORIS.

Vu : *Le Doyen,*
M. RADAIS.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLETY.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	11
CHAPITRE PREMIER : Technique de la méthode de Hatcher-Magnus appliquée au chien	14
CHAPITRE II : Préparation des solutions renfermant les principes actifs de la digitale. — Infusés et teintures.	18
CHAPITRE III : Constance de la dose minima mortelle de l'ouabaine cristallisée déterminée à des concentrations diverses	21
CHAPITRE IV : Détermination des doses minima mortelles de quelques poudres de digitale avec des infusés de concentrations diverses	24
CHAPITRE V : Détermination des doses minima mortelles de quelques poudres de digitale après injection préalable d'une dose non mortelle d'ouabaine.	30
CHAPITRE VI : Détermination des doses minima mortelles de quelques poudres de digitale au moyen de teintures alcooliques	36
CHAPITRE VII : Évaluation des erreurs commises dans la détermination de la dose minima mortelle d'une poudre de digitale par la méthode de Hatcher-Magnus appliquée au chien.	42
CONCLUSIONS.	46

